

УДК 576.895.132.3 : 595.772 : 577.115

© 1993

ВЛИЯНИЕ МЕРМИТИД *PARAMERMIS TABANIVORA* НА ЛИПИДНЫЙ СТАТУС ЛИЧИНОК СЛЕПНЕЙ РОДА *HYBOMITRA*

С. Д. Гурьянова, В. В. Сорокина, В. С. Сидоров

Методом тонкослойной и газо-жидкостной хроматографии исследован сравнительный липидный состав личинок слепней, зараженных мермитидами и не зараженных. У личинок слепней, зараженных мермитидами, происходило значительное снижение содержания липидов в теле преимущественно за счет запасных липидов — триацилглицеринов и в меньшей степени за счет структурных липидов — фосфолипидов. Выявлены изменения в соотношении отдельных фосфолипидных фракций. У зараженных личинок слепней было снижено содержание фосфотидилхолина и повышена концентрация лизофосфатидилхолина. Имеются различия и в жирнокислотном составе. У зараженных особей снижается относительное содержание незаменимых жирных кислот (арахидоновой, линолевой и линоленовой) и увеличивается количество насыщенных жирных кислот (пальмитиновой, олеиновой, стеариновой).

Важным направлением в изучении формирования паразито-хозяйинных взаимоотношений является исследование влияния паразита на обмен веществ хозяина. В основном изучены физиологические процессы, лежащие в основе взаимоотношений между насекомыми и паразитирующими у них мермитидами. В частности, у мошек, инвазированных мермитидами, нарушается метаморфоз, развивается стерильность или интерсексуальность и видоизменяются поведенческие реакции (Molloy, 1981), выявлены изменения во внешнем облике половых зрелых хирономид (в форме и размерах головы и крыльев) (Titmus, Badcock, 1981). В основе этих изменений, по-видимому, лежат сдвиги биохимических процессов как ответной реакции организма. В то же время следует отметить, что фактически отсутствуют данные, говорящие о влиянии инвазии на биохимические показатели насекомых (Gordon e. a., 1979; Gordon, 1981).

Учитывая это, целью наших исследований было изучение влияния мермитид *Paramermis tabanivora* на липидный состав личинок слепней рода *Hybomitra*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материал был собран на территории Карелии (Кондопожский р-н, пос. Кончезеро). Зараженных и незараженных личинок слепней многократно промывали в дистиллированной воде, просушивали на фильтровальной бумаге, измельчали ножницами и фиксировали в колбах со шлифами смесью хлороформа с метанолом (2 : 1). По каждому варианту было собрано по 5 проб. Каждая проба для анализа состояла из 8—10 экз. личинок слепней. Анализ каждой пробы проводили в трех повторностях. Из полученных проб липиды извлекали по методу Фолча (Folch e. a., 1957). Общий липидный экстракт анализировали с помощью одномерной хроматографии на силикагеле. Фосфолипиды, триацилглицерины и эфиры холестерина определяли гидроксаматным методом, холестерин по методу Ильке, модифицированному применительно к тонкослойной хроматографии. Количественную оценку фосфолипидных групп определяли по фосфору, используя в качестве восстановителя аскорбиновую

кислоту (Rouser e. a., 1966). Для определения жирных кислот липиды метилировали метанолом с хлористым ацетилом (Цыганов, 1971). Метилловые эфиры жирных кислот экстрагировали гексаном и разделяли на хроматографе при 170° в колонках длиной 2.4 м и внутренним диаметром 3 мм на полярной фазе (15%-ный диэтиленгликольсукцинат на хромосорбе III-AIII). Идентификацию жирных кислот проводили по времени удерживания метчиков, а также сравнением собственных данных с литературными.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования показали, что на ранних стадиях паразитирования мермитиды оказывают воздействие ее на хозяина незначительно и проявляется лишь в медленном накоплении резервных веществ и удлинении сроков развития инвазированных насекомых по сравнению со здоровыми. Замечено, что у личинок слепней в это время усиливается агрессивность, увеличивается интенсивность питания. Истощение хозяина начинается при переходе личинок мермитид в паразитарную стадию. Вес тела зараженных личинок падает и составляет 172.3 мг, незараженных — 228.4 мг. Аналогичное явление было обнаружено у божьих коровок при инвазии их мермитидами *Coccinellimermis* (Rhamhalinghan, 1986).

Инвазия слепней мермитидами сопровождается значительным уменьшением содержания липидов в их теле (в 1.5 раза). Снижение уровня общих липидов в зараженных личинках слепней происходило преимущественно за счет уменьшения запасных липидов — триацилглицеринов. Так, количество триацилглицеринов у незараженных особей равнялось 13.5, а у зараженных — 8.1 % на сухой вес (табл. 1). Следует отметить, что мермитиды, используя резервы хозяина для своего роста и развития, накапливают большое количество триацилглицеринов (21.6 %), которые им необходимы для образования яиц, спермиев и развития половых органов (Гурьянова и др., 1989). Вероятно, мермитиды используют готовые продукты обмена хозяина, что характерно для паразитических организмов.

Инвазия мермитидами вызывала деструктивные изменения в теле личинок слепней. Об этом можно судить по уменьшению структурных липидов. Общее количество фосфолипидов у незараженных особей составляло 7.4, а у зараженных — 5.6 % (табл. 1). При этом происходило изменение соотношения отдельных фосфолипидов, для которого наиболее характерным является увеличение содержания лизофосфатидилхолина (в 5 раз) при большем уменьшении содержания фосфатидилхолина. Отсутствие полного стехиометрического соответствия между увеличением содержания лизофосфатидилхолина и уменьшением количества фосфатидилхолина также часто наблюдается нами у различных организмов при разного рода стрессах, в том числе и при действии паразитов на хозяина — рыб (Гурьянова, 1980). По-видимому, это связано с тем, что в этом процессе участвуют несколько ферментов: лизосомальная фосфатидилхолинэстераза (типа лецитиназы А), вызывающая гидролиз мембранных фосфолипидов, и лизофосфатидилэстераза (лизолецитиназа), осуществляющая гидролиз лизофосфатидилхолина (мощного детергента и поэтому сильного яда для организма) на свободную жирную кислоту и фосфатидную кислоту. У зараженных личинок снижается также количество сфингомиелина. Содержание других фосфолипидных фракций — фосфатидилэтаноламина, кардиолипина и фосфатидной кислоты изменялось незначительно.

О нарушении липидного статуса у зараженных слепней можно судить также по изменению соотношений жирных кислот. Особенно большая разница обнаружена в соотношении жирных кислот, имеющих алиментарное происхождение. У зараженных особей в липидах количество арахидоновой кислоты (20 : 4п6) уменьшалось в 2 раза, линолевой (18 : 2) в 1.5 раза, линоленовой

Т а б л и ц а 1

Содержание липидов у личинок слепней, не зараженных и зараженных мермитидами *Paramermis tabanivora* (в % к сухой массе)

Content of lipids in horse-fly larvae, which are free or infected with *Paramermis tabanivora*, in % to dry mass

Липидные фракции	Личинки слепней	
	незараженные	зараженные (после выхода мермитид)
Общие липиды	23.2±2.9	15.6±1.2
Фосфолипиды	7.4±0.1	5.6±1.2
Триацилглицерины	13.5±3	8.1±1.3
Холестерин	1.7±0.3	1.2±0.2
Эфиры холестерина	0.6±0.1	0.7±0
Лизофосфатидилхолин	0.1±0.01	0.5±0.1
Сфингомиелин	1.1±0.02	0.5±0.01
Фосфатидилхолин	3.1±0.1	2.1±0.3
Фосфатидилэтаноламин	1.3±0.3	1.6±0.4
Фосфатидная кислота	0.4±0.05	0.5±0.1
Кардиолипин	0.4±0.2	0.4±0.1

(18 : 3п3) в 2—7 раз (табл. 2). Как известно, незаменимые жирные кислоты служат источником для синтеза целого ряда полиненасыщенных жирных кислот, имеющих большое физиологическое значение (определяют устойчивость и нормальное функционирование структурных липидов клеточных мембран). Вероятно, с этим связано уменьшение у зараженных особей доли пентаеновых кислот (в 2—2.5 раза), а это в свою очередь может привести к ослаблению жизнеспособности личинок и даже к гибели. С другой стороны, у зараженных личинок слепней по сравнению с незараженными увеличено количество насыщенных жирных кислот: пальмитиновой 16 : 0 (на 34—70 %), олеиновой 18 : 0 (на 15.8—29 %) и стеариновой 18 : 0 (на 60—98.1 %), которые

Т а б л и ц а 2

Содержание жирных кислот у личинок слепней, зараженных и не зараженных мермитидами *Paramermis tabanivora* (в % к общей сумме жирных кислот)

Content of fat acids in horse-fly larvae, which are infected or not infected with *Paramermis tabanivora* (in % to total sum of fat acids)

Жирные кислоты	Общие липиды		Фосфолипиды		Триацилглицерины	
	незаражен- ные личинки	зараженные	незаражен- ные личинки	зараженные	незаражен- ные личинки	зараженные
16 : 0	14.4±0.7	19.3±0.1	9.4±0.2	14.1±0.3	13.1±0.5	22.7±1
16 : 1	15.3±0.1	7.5±0.3	5.6±0.2	6±0.3	16±0.4	6.7±0.4
18 : 0	5.4±0.7	10.7±0.1	6.8±0.4	6.9±0.4	3±0.1	4.7±0.2
18 : 1	20±1	25.8±0.3	16.8±0.5	17±0.7	16.4±0.9	19.1±0.8
18 : 2	17.3±1.7	17.4±0.2	22.3±0.5	20.7±1	20.2±1.2	16.6±0.9
18 : 3 п3	5.2±0.1	2±0	3.9±0.4	3.7±0.3	10.2±0.4	1.4±0.1
20 : 3 п6*	0.8±0.1	3.1±0.4	4.7±0.3	11.6±0.4	1.2±0.1	10±0.7
20 : 4 п6	4.6±0.3	2.8±0.3	7.7±0.4	3.9±0	3.4±0.1	2.5±0.3
20 : 5 п3	6±0.1	3.1±0.1	13.4±0.5	4.9±0.2	4.8±0.2	2.2±0.2
Другие *	11	8.3	9.4	11.2	11.7	14.1
В том числе:						
насыщенные	24.9	33.4	18.1	24.2	20.4	34.9
моноеновые	40.6	36.8	25.6	25.8	36.6	27.7
полиеновые	34.5	29.8	58.3	50	43	37.4

П р и м е ч а н и е. * Минорные компоненты жирных кислот личинок слепней содержат: 12 : 0, 13 : 1, 14 : 1, 14 : 0, 15 : 0, 15 : 1, 17 : 0, 18 : 3 п6, 20 : 0, 20 : 1, 20 : 2 п9, 20 : 4 п3.

синтезируются в организме. Наблюдаемое нами повышение уровня этих кислот у зараженных особей, вероятно, можно объяснить усиленным синтезом их для компенсации потерь липидного материала, в частности запасных липидов.

Однако следует иметь в виду, что пока совершенно точно можно констатировать лишь сам факт изменения соотношения жирных кислот в различных липидных фракциях, так как могут быть и другие объяснения наблюдаемого факта — изменения относительного (а не абсолютного) содержания жирных кислот. В частности, любое уменьшение доли той или иной жирной кислоты должно вести к соответствующему (расчетному) увеличению доли других жирных кислот. Например, если содержание 20 : 3 кислоты по какой-то объективной причине увеличивалось в 1.5 раза, то относительная доля любой другой кислоты должна уменьшаться приблизительно в 0.25 раза, что мы не наблюдаем и что говорит о более сложной зависимости состава жирных кислот, чем простое изменение концентрации только одной из них. Уменьшение относительного содержания некоторых полиеновых кислот (как незаменимых — 18 : 2, 18 : 3 и 20 : 4, так и заменимых — 20 : 5) могло быть вызвано усилением жирнокислотного окисления полиеновых кислот, что особенно часто отмечается при многих заболеваниях и стрессах (возможно, и при гельминтозах). Хотя неясно, почему при этом увеличивается доля 20 : 3 кислоты. Иначе говоря, для выяснения самого механизма наблюдаемых процессов требуется дополнительная и тонкая работа.

Таким образом, полученные результаты говорят о том, что паразитирование мермитид в теле личинок слепней вызывает перестройку липидного обмена. Под влиянием паразита у слепней наблюдается лизис биомембран (о чем свидетельствует увеличение содержания лизофосфатидилхолина), заметное изменение соотношения незаменимых жирных кислот, а также резкое уменьшение абсолютного содержания запасных липидов.

Список литературы

- Гурьянова С. Д. Липидный состав отдельных тканей налима при заражении их гельминтами // Биохимия пресноводных рыб Карелии. Петрозаводск, 1980. С. 36—41.
- Гурьянова С. Д., Сорокина В. В., Рипатти П. О., Сидоров В. С. Липиды нематоды *Paramermis tabanivora* (Nematoda, Mermithidae) // Паразитология. 1989. Т. 23, вып. 3. С. 264—267.
- Сидоров В. С., Лизенко Е. И., Болгова О. М., Нефедова З. А. Липиды рыб. I. Методы анализа. Тканевая специфичность липидов ряпушки *Coregonus albula* // Лососевые (Salmonidae) Карелии. Вып. 1. Петрозаводск, 1972. С. 144—151.
- Цыганов Э. П. Метод прямого метилирования липидов после ТСХ без элюирования с силикагеля // Лаб. дело. 1971. № 8. С. 490—493.
- Folch G., Lees M., Sloane Stanley G. H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues (for brain, liver and muscle) // J. Biol. Chem. 1957. Vol. 226. P. 497—509.
- Gordon R., Finney R., Cordon W. J., Rusted T. N. Lipid in the storage organs of three mermithid nematodes and in the hemolymph of their hosts // Comp. Biochem. and Physiol. 1979. Vol. 64, N 64. P. 369—374.
- Gordon R. Mermithid nematodes: physiological relationships with their insect hosts // J. Nematol. 1981. Vol. 13. P. 266—274.
- Molloy D. P. Mermithid parasitism of black flies (Diptera: Simuliidae) // J. Nematol. 1981. Vol. 13. P. 250—256.
- Rhamphalingham M. Pathologies caused by *Coccinellimermis Rubtzov* (Nematoda: Mermithidae) in *Coccinella septempunctata* L. (Coleoptera: Coccinellidae) // Proc. Indian. Nat. Sci. Acad. 1986. B 52, N 2. P. 228—231.
- Rouser G., Siakotos A. N., Fleisher S. Quantitative analysis of phospholipids by thinlayer chromatography and phosphorus analysis of spots // J. Lipids. 1966. Vol. 1. P. 85—86.
- Titmus G., Badcock R. M. Amorphometric study of the effects of a mermithid parasite on its host, the chironomid midge *Einfeldia dissidens* (Walker) (Diptera) // Z. Parasitenk. 1981. Bd 65, N 3. P. 353—357.

Институт биологии Карельского научного центра РАН,
Петрозаводск

Поступила 27.02.1993

THE INFLUENCE OF THE MERMETID PARAMERMIS TABANIVORA
ON THE LIPID STATE OF HORSE-FLY LARVAE

S. D. Guryanova, V. V. Sorokina, V. S. Sidorov

Key words: *Paramermis tabanivora*, Tabanidae, larva, lipid state, fat acids.

S U M M A R Y

The lipid state of horse-fly larvae was studied by means of thinlayer and gas-liquid chromatographies. The significant decrease of lipid content took place in larvae of horse-flies infected with mermetids. The decrease of lipid contents in the body of infected larvae was put into effect mainly by the decrease of stock lipids (triacylglycerines) and in lesser degree by structure lipids (phospholipids). Changes in the ratio of some phospholipid fractions have been observed. A lower content of the phosphatidylcholine and lower content of the lysophosphatidylcholine were observed in infected larvae of horse-flies. Also, there are differences in a fat-acid content. In the infected larvae the relative content of indispensable fat acids (namely arachidone, linole and linoleic acids) is decreased, and the content of the saturated fat acids (palmitic, oleic and stearic acids) is increased.